

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA



**Pohlavní chromozomy v hybridní zóně myši
domácí**

Dizertační práce

Petra Dufková

Školitel: prom. biol. Jaroslav Piálek, CSc.
Ústav biologie obratlovců AV ČR, v. v. i.
Oddělení populační biologie, Studenec

Školitel specialista: prof. RNDr. Miloš Macholán, CSc.
Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v. v. i.
Laboratoř evoluční genetiky savců, Brno

České Budějovice 2011

Dizertační práce

Dufková, P. 2011: Pohlavní chromozomy v hybridní zóně myši domácí. [Sex chromosomes in the house mouse hybrid zone. Ph.D. Thesis, in Czech.] - 75 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation: Understanding the genetic basis of reproductive isolation is the ultimate goal of the study of speciation. Here I present the results of a study of gene flow and its barriers at sex chromosome markers across the central European portion of the hybrid zone between two house mouse subspecies, *Mus musculus musculus* and *M. m. domesticus*. We identified strong introgression of $Y^{musculus}$ chromosome into the *domesticus* area accompanied by a perturbation of the census sex ratio. In addition, we detected stochastic effects that can distort results of hybrid zone studies. Finally, we confirmed a strong effect of sex chromosomes on reproductive isolation and hence their important role in the process of speciation.

Tato práce vznikla za podpory následujících projektů: GAČR: 206/08/0640 (Jaroslav Piálek), 206/06/0707 (Miloš Macholán), 206/03D148 (Pavel Munclinger), 206/06/0955 (Jaroslav Piálek); FCT (Portugalsko): PTDC/BIA-BEC/103440/2008 (Stuart J. E. Baird); GA AV ČR: IAA600930506 (Jaroslav Piálek); MŠMT: LC06073 (Jaroslav Piálek), 0021620828 (Pavel Munclinger); SGA PřFJU a GAJU: 137/2010/P (Petra Dufková).

Prohlašuji, že svoji disertační práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své disertační práce, a to v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou, elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

Ve Českých Budějovicích, dne 14.2.2011

.....
Petra Dufková

VYJÁDŘENÍ SPOLUAUTORŮ

Souhlasíme, aby se níže uvedené publikace staly podkladem pro dizertační práci Petry Dufkové.

Příloha 1: Macholán, M., Baird, S. J. E., Munclinger, P., Dufková, P., Bímová, B., and Piálek, J. 2008. Genetic conflict outweighs heterogametic incompatibility in the mouse hybrid zone? *BMC Evolutionary Biology* (8): 271-284. – podíl P. Dufkové je 17% (1/6).

Příloha 2: Macholán, M., Baird, S. J. E., Dufková, P., Munclinger, P., Bímová Vošlajerová, B., and Piálek, J. 2011. Assessing multilocus introgression patterns: A case study on the mouse X chromosome in central Europe. *Evolution*, doi: 10.1111/j.1558-5646.2011.01228.x – podíl P. Dufkové je 17% (1/6).

Příloha 3: Dufková, P., Macholán, M., and Piálek, J. 2011. Inference of selection and stochastic effects in the house mouse hybrid zone. *Evolution*, doi: 10.1111/j.1558-5646.2011.01222.x. – podíl P. Dufkové je 33% (1/3).

Prom. biol. Jaroslav Piálek, CSc.

Prof. RNDr. Miloš Macholán, CSc.

Mgr. Pavel Munclinger, Ph.D.

RNDr. Barbora Vošlajerová, Ph.D.

Stuart J. E. Baird, Ph.D.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala:

školiteli Jaroslavu Piálkovi za zajímavé téma a prostor, který mi poskytnul při jeho řešení. Děkuji za cenné rady, trpělivost a odborné vedení

Miloši Macholánovi za spolupráci, odborné konzultace a trpělivost

Pavlu Munclingerovi za spolupráci a společné chytání myší v hybridní zóně

Barboře Vošlajerové za konzultace, podporu a pochopení

Lucii Vlčkové za obrovskou pomoc v laboratoři

Priscille K. Tucker za příjemnou a přínosnou tříměsíční stáž v Ann Arbor

Ani Bryjové za cenné rady a Zuzaně Hiadlovské za podporu

Ondřeji Piálkovi za napsání programu pro jackknife analýzu

všem spoluautorům za spolupráci

pracovnímu kolektivu Oddělení populační biologie ve Studenci

Pavlovi, Davidovi a Radce, Samuelkovi a Šimonkovi

Největší díky patří mým rodičům

OBSAH

Úvod.....	1
Souhrn dizertační práce.....	12
Literatura.....	14
Příloha 1.....	22
Příloha 2.....	37
Příloha 3.....	57

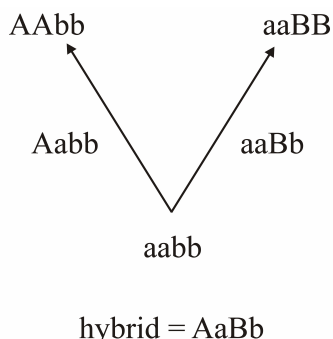
ÚVOD

Speciace, tj. vznik nových druhů, je jednou z klíčových otázek evoluční biologie.

Jestliže vycházíme z tzv. biologického konceptu druhu (Biological species concept), který druh definuje jako skupinu přírodních populací, které se mezi sebou kříží a jsou reprodukčně izolované od ostatních skupin (Dobzhansky, 1937; Mayr, 1942), pak můžeme speciaci definovat jako stav, kdy genetické změny rozdělí stávající druh na dva druhy nové, oddělené reprodukční bariérou bránící toku genů (Coyne a Orr, 1998). Podle toho, na které úrovni reprodukce izolační mechanismy působí, je dělíme na prekopulační, postkopulační prezygotické a postzygotické. Jak už název napovídá, u prekopulačních bariér vůbec nedochází ke kopulaci/opylování, toku genů je tedy zabráněno ještě před transportem spermií nebo pylu. Mezi prekopulační bariéry patří například behaviorální (etologická) izolace, kdy dochází ke snížení atraktivnosti heterospecifického (náležícího k jinému druhu) sexuálního partnera a preferován je jedinec konspecifický (náležící ke stejnému druhu) (Coyne et al., 1994; Bímová et al., 2005), nebo izolace mechanická, která zabraňuje fertilizaci díky morfologické nekompatibilitě (neslučitelnosti) pohlavních orgánů sexuálních partnerů. Do prekopulačních izolací řadíme také obranu proti autogamii (samooplození) a apomixii (způsob nepohlavního rozmnožování rostlin). Naopak je tomu u postkopulačních prezygotických bariér, kdy k transportu spermií/pylu dochází, avšak není následováno úspěšným oplozením. Do této skupiny řadíme například gametickou inkompatibilitu, jejíž podstatou je neschopnost heterospecifických gamet vyvolat oplození v důsledku poruchy biochemických signálů, které umožňují splynutí vajíčka a spermie. U poslední skupiny, tedy u postzygotických reprodukčních bariér, potomstvo vzniká, ale trpí snížením životaschopnosti a plodnosti, jehož podstata může být vnější (např. ekologická nebo behaviorální), nebo vnitřní. Ke vzniku postzygotické ekologické reprodukční bariéry dochází v případě, že hybridní jedinci nemohou najít vhodnou ekologickou niku (příčemž ani jedna rodičovská jim nevyhovuje), kdežto behaviorální izolace spočívá ve snížení atraktivnosti hybridů pro sexuální partnery opačného pohlaví. Vnitřní postzygotické reprodukční izolace vznikají v důsledku chromozomálních nebo genetických defektů, které postihují především reprodukční systém (hybridní sterilita, snížená fertilita) a bazální fyziologické funkce (hybridní neživotaschopnost) (Coyne a Orr, 2004).

Ale jaké geny se podílejí na vzniku reprodukčních izolací a které evoluční síly (selekce, drift) řídí jejich divergenci? Mají tyto „speciační geny“ speciální, nebo základní funkci v organismu? Jsou to spíše repetitivní sekvence nebo transposibilní elementy? Můžeme je zařadit do nějaké funkční skupiny (např. transkripční faktory)? Kolik takových genů se podílí na tvorbě reprodukčních bariér, jak spolu interagují a jaká je jejich lokace v genomu?

Zájem o genetickou podstatu speciace byl odstartován už před několika dekádami, ale v poslední době je ještě posílen rozvojem nových genetických technik, především sekvenováním genomů modelových organismů. Většina současných prací zabývajících se vznikem postzygotických reprodukčních bariér je založena na tzv. Dobzhanského-Mullerově modelu (Dobzhansky, 1937; Muller, 1940, 1942), který vysvětluje vznik těchto bariér epistatickými intrakcemi alternativních alel tzv. komplementárních genů, které nemají žádný negativní účinek v rámci vlastního taxonu, ale na genetickém pozadí taxonu cizího, i když blízkého příbuzného, způsobují redukci fertility nebo životaschopnosti a tím výrazně snižují reprodukční zdatnost (fitness) hybridů (tento model může teoreticky zahrnovat různé alely na jednom lokusu, tento případ je ale mnohem méně pravděpodobný). Pokud se totiž původní populace rozdělí na dvě subpopulace, které se geograficky izolují, pak v každé z těchto alopatrických subpopulací (alopatrie – geograficky oddělený výskyt) časem dochází ke kumulaci nezávislých mutací, čímž obě subpopulace geneticky divergují. Následně pak při sekundárním kontaktu těchto příbuzných subpopulací vzniká hybridní potomstvo, v jehož genomu se dostávají do kontaktu alternativní alely, jejichž kombinace v hybridním genomu může být nekompatibilní a tím snižovat fitness (obr. 1). Jsou-li geny zahrnuty do spletité sítě vzájemných interakcí, každá další substituce alel způsobuje nelineární kumulaci nekompatibilit a následuje tzv. „efekt sněhové koule“ („Snowball effect“, Orr, 1995; Orr a Turelli, 2001; Kondrashov, 2003).



Obr. 1: Dobzhanského–Mullerův model vzniku nekompatibilit zahrnující dva lokusy. Alely *A* a *B* jsou plně kompatibilní s vlastním genetickým pozadím (alely *a* a *b*), kombinace *AB* u hybridů je však nekompatibilní (podle Orr a Presgraves, 2000).

Vznik reprodukčních bariér můžeme studovat pomocí experimentálního křížení v laboratoři, kdy se snažíme detekovat určitý fenotyp, který by se vznikem reprodukční izolace mohl souviset.

V tomto případě jsme ale limitováni počtem generací (a tedy rekombinací), které máme k dispozici, a navíc vznikající hybridní nejsou testovány přírodním výběrem, což snižuje možnost generalizování na skutečné situace v přírodě. Alternativním přístupem ke studiu vzniku reprodukčních izolací je výzkum „přírodních laboratoří“ – hybridních zón (Barton a Hewitt, 1989). Hybridní zóny jsou oblasti, ve kterých dochází ke křížení geneticky odlišných populací, přičemž vzniká hybridní potomstvo s kombinovaným genomem, které je alespoň částečně životaschopné (Barton a Hewitt, 1989; Harrison, 1990, 1993; Arnold, 1997). Jsou to dynamické systémy, jejichž struktura je určována genetickými a ekologickými predispozicemi hybridizujících taxonů. Mohou vznikat sekundárním kontaktem populací, které geneticky divergovaly v alopatrii (Mayr, 1942), např. podle Dobzhanského-Mullerova modelu popsaného výše, nebo jako přímá odpověď na selekční tlaky podél environmentálního gradientu (Harrison, 1993). V případě, že je hybridní linie udržována rovnováhou mezi disperzí rodičovských populací a selekcí působící proti vznikajícím hybridům, hovoříme o „tenzní“ hybridní zóně (Barton a Hewitt, 1985). Na rozdíl od zón udržovaných vnější selekcí není poloha tenzní zóny na vnějším prostředí závislá a může se pohybovat, tlačena diferenciálním tokem genů do oblastí nízké populační hustoty nebo geografické bariéry bránící migraci. Rozdílná populační hustota současně způsobuje, že změna frekvence jednoho znaku (klina) ovlivňovaného selekcí bude díky tomuto diferenciálnímu toku genů probíhat ve stejné oblasti jako klina pro ostatní selektované znaky. Takové klina označujeme jako koincidentní (se shodnou pozicí jejich středu), jejich šířka se ovšem může lišit v závislosti na síle selekce, která na ně působí; tedy čím je selekce větší, tím je klina pro daný znak strmější (Slatkin, 1973, 1975; Nagylaki, 1975, 1976; Endler, 1977). Jinými slovy předpokládáme, že na geny související s tvorbou reprodukčních bariér bude působit velmi silná selekce limitující pronikání (introgresi) alel těchto genů do areálu cizího taxonu, takže tyto geny budou charakterizovány velmi strmými klinami, zatímco selekčně neutrální alely budou přes hybridní zónu pronikat volně a jejich klina budou široké.

Hybridních zón se v přírodě nachází mnoho - u rostlin i živočichů, u organismů suchozemských i vodních (Arnold et al., 1990; Malet et al., 1990; Szymura a Barton, 1991; Moore a Price, 1993; Rieseberg et al., 1999). Jednou z nejlépe prostudovaných přírodních hybridních zón je pak evropská hybridní zóna u myši domácích.

Tuto hybridní zónu je třeba chápat v kontextu postglaciální kolonizace Evropy. Myš domácí (*Mus musculus*) je synantropní (vyskytující se v blízkosti lidských obydlí a vázaný na lidskou činnost) a velmi přizpůsobivý druh, což dokazuje jeho kosmopolitní rozšíření. Myš domácí vznikla pravděpodobně v oblasti severní Indie a Pákistánu a odtud se s rozvojem zemědělství rozšířila do celého světa (Boursot et al., 1996; Din et al., 1996). Komplex *Mus musculus* zahrnuje několik blízkce příbuzných poddruhů (někdy uváděných jako samostatné druhy – Sage et al., 1993; Geraldés et al., 2008), především *M. m. musculus*, *M. m. domesticus* a *M. m. castaneus*, které se od společného předka oddělily asi před 350 000 - 900 000 lety (She et al., 1990; Boursot et al., 1993, 1996; Geraldés et al., 2008). Myši poddruhu *M. m. domesticus* kolonizovaly Středozeří, západní Evropu a severní Afriku a díky synantropní vazbě byly s lodní dopravou introdukovány také do Austrálie, subsaharské Afriky i do Severní a Jižní Ameriky. Populace *M. m. musculus* se rozšířily pravděpodobně podél Dunaje do střední a východní Evropy a posléze do Skandinávie; její areál zasahuje přes asijský kontinent severně do Himalájí až na Dálný východ (Auffray et al., 1990; Cucchi et al., 2005). Třetí poddruh, *M. m. castaneus*, se



Obr. 2 Evropská hybridní zóna myši domácí (©Miloš Macholán)

nachází v jihovýchodní Asii (Boursot et al., 1993).

V místech sekundárního kontaktu areálů jednotlivých poddruhů vznikly hybridní zóny. Poddruhy *musculus* a *castaneus* hybridizují v oblasti ruského Dálného východu a Japonska, kde daly vzniknout novému poddruhu – *M. m. molossinus* (Yonekawa et al., 1988). Areály *M. m. musculus* a *M. m. domesticus* se setkávají

v Evropě, kde vznikla asi 2500 km dlouhá a 20-30 km široká hybridní zóna, která prochází celým kontinentem od Dánska až po Bulharsko (Boursot et al., 1993; Macholán et al., 2003) (obr. 2) a recentně byla potvrzena také v Norsku (Jones et al., 2010). Jde o tenzní hybridní zónu, která byla studována v sedmi geograficky oddělených oblastech: v Norsku (Jones et al., 2010), Dánsku

(Hunt a Selander, 1973; Vanlerberghe et al., 1986, 1988; Dod et al., 1993, 2005; Britton-Davidian et al., 2005; Raufaste et al., 2005), východním Holštýnsku (Prager et al., 1993, 1997), Sasku a přilehlých oblastech (Teeter et al., 2010), západních Čechách a severovýchodním Bavorsku (Macholán a Zima, 1994; Munclinger et al., 2002; Bímová et al., 2005; Božíková et al., 2005; Macholán et al., 2007, 2008, 2011 – Příloha 2, Dufková et al., 2011 – Příloha 3; Vošlajerová Bímová et al., 2011), jižním Bavorsku a severozápadním Rakousku (Tucker et al., 1992; Payseur et al., 2004; Teeter et al., 2008, 2010) a v Bulharsku (Vanlerberghe et al., 1986). Historie prvního kontaktu mezi *M. m. musculus* a *M. m. domesticus* není zcela jasná. Populace obou taxonů se zřejmě setkaly nejprve v oblasti jihovýchodního Balkánu (Bulharsko) a s postupnou kolonizací jejich hybridizace pokračovala k severu (Auffray et al., 1990; Sage et al., 1993; Cucchi et al., 2005). Ve Skandinávii je tedy zóna nejmladší. Z množství studovaných transektů je patrné, že myší hybridní zóna je výborným nástojem ke studiu dynamiky toku genů a genetické architektury reprodukčních bariér během raných stádií speciace.

Myš domácí je modelový organismus s osekvenovaným genomem a tudíž mnoha popsányými molekulárními markery, které se pro studium molekulární podstaty speciace dají použít (Dietrich et al., 1996; Lindblad-Toh et al., 2000; Mouse Genome Sequencing Consortium, 2002; Abe et al., 2004; Pletcher et al., 2004; Shifman et al. 2006; Yang et al., submitted). Dosavadní studium reprodukčních bariér ukazuje, že geny související s hybridní sterilitou a inviabilitou jsou velmi často vázány na pohlavní chromozomy, obzvláště často pak na chromozom X (Tao et al., 2003), a často mají recesivní charakter. Tento jev je v literatuře popisován jako „Large X-effect“ (velký účinek chromozomu X). Podle teorie dominance (Turreli a Orr, 1995, 2000; Coyne a Orr, 2004) může být fenotypový projev těchto genů u samic, kde je chromozom X přítomen v diploidním stavu, maskován alelami dominantními, kdežto u heterogametických samců, kde je X přítomen pouze v jedné kopii, dochází k jejich plné expresi vedoucí k potenciální epistatické interakci. Hybridní sterilita a snížení fitness se tedy projevuje vždy více u heterogametického pohlaví, v souladu s predikcí Haldaneova pravidla, které předpokládá, že pokud v F1 potomstvu vzniklém křížením dvou odlišných taxonů jedno pohlaví chybí, je vzácnější nebo je sterilní, je to vždy pohlaví heterogametické (XY, ZW) (Haldane, 1922). Haldaneovo pravidlo bylo prokázáno u hmyzu, ptáků i savců (Wu a Davis, 1993; Laurie, 1997) a recentně i u rostlin (Brothers a Delph, 2010).

V souvislosti s chromozomem X bylo popsáno několik genů způsobujících postzygotickou reprodukční izolaci v důsledku Dobzhanského-Mullerových nekompatibilit. Při mezidruhové hybridizaci ryb rodu *Xiphophorus* (*X. maculatus* a *X. helleri*) dochází u hybridů ke vzniku maligních melanomů. Tato hybridní letalita je způsobena nekompatibilitou mezi X-vázaným genem *Xmrk-2^{maculatus}*, který kóduje transmembránový receptor pro tyrozin kinázu, a autozomálním lokusem (represorem genu *Xmrk-2*) u *X. helleri* (Wittbrodt et al., 1989; Malitschek et al., 1995).

Také celá řada studií na octomilkách ukázala, že mezidruhová substituce chromozomu X má zásadní dopad na vznik hybridní sterility. V první řadě jmenujme X-vázaný gen *OdsH* (*Odysseus-site Homeobox*) (Coyne a Charlesworth, 1986; Ting et al., 1998). Tento gen kóduje transkripční faktor, který se váže na heterochromatinové oblasti DNA, kde způsobuje jejich dekonduzaci a tak reguluje expresi dalších genů (Bayes a Malik, 2009). Introgrese genu *OdsH* *Drosophila mauritiana* do genomu *D. simulans* způsobuje poruchu exprese genů ve varlatech hybridů a následnou sterilitu (Wu a Ting, 2004). Při křížení *Drosophila melanogaster* a *D. simulans* byly objeveny další geny způsobující nežitvatnost hybridů: gen *Hmr* (*Hybrid male rescue*), který se rovněž vyskytuje na chromozomu X (Barbash et al., 2003), a gen *Nup96* (*Nucleoporin96*), který se sice nachází na chromozomu 3, ale v přítomnosti „cizího“ X (*X^{melanogaster}*) způsobuje hybridní inviabilitu.

U genů *OdsH*, *Hmr* i *Nup96* byla prokázána vysoká divergence v kódujících oblastech způsobená pozitivní selekcí, která dokazuje rychlou evoluci těchto lokusů (Barbash et al., 2004; Ting et al., 1998; Orr, 2005). Obecně rychlejší evoluci chromozomu X v porovnání s autozomy popisuje teorie „efektu rychlého X“ („Fast X-effect“ (Counterman et al., 2004; Harr, 2006).

Také u myši domácí bylo popsáno několik genů souvisejících s hybridní sterilitou a inviabilitou. Za zmínku jistě stojí první speciální lokus popsaný u savců - *Hst1* (*Hybrid sterility 1*), který byl identifikován na myším chromozomu 17 a který způsobuje poruchy v raných stádiích spermatogeneze (Forejt a Ivanyi, 1974; Forejt et al., 1991). Pomocí pozičního klonování a transgenóze (Mihola et al., 2009) bylo zjištěno, že gen *Hst1* je totožný s genem *Prdm9* (*Protein domain containing 9*, známý také jako gen *Meisetz*), který kóduje H3K4 metyltransferázu a k jehož expresi dochází v zárodečných buňkách ovarí i varlat vstupujících do meiotické profáze (Hayashi et al., 2005). Tento transkripční faktor zajišťuje aktivaci dalších genů nezbytných při meióze. Zdá se, že pro sterilitu je rozhodující počet zinkových prstů na C-konci vznikajícího

proteinu, kterým se váže na DNA. Zatímco protein se 14 zinkovými prsty funguje správně, delece i jen jedné strukturní domény má za následek sterilitu.

Nejvíce genů spojených s reprodukční izolací je u myši vázáno na pohlavní chromozom X. To bylo prokázáno nejen při experimentálním křížení, ale také výsledky z myší hybridní zóny ukazují, že chromozom X by mohl být hlavním kandidátním nositelem speciálních genů.

Storchová et al. (2004) prokázali samčí hybridní sterilitu způsobenou nekompatibilitami mezi chromozomem X (gen *Hstx1*- hybrid sterility X chromosome 1) kmene PWD (odvozeného z *M. m. musculus*) a genetickým pozadím inbredního kmene C57BL/6J (B6), jehož genom obsahuje převahu genů *M. m. domesticus*. Konzomičtí samci B6-X^{PWD}Y^{B6} měli prokazatelně menší varlata, snížený počet spermií, navíc s různými morfologickými abnormalitami (konzomické kmene, také nazývané jako chromozomální substituční linie, jsou inbrední kmene, kde byl jeden chromozom nahrazen homologním chromozomem jiného inbredního kmene).

Podobně Oka et al. (2004) pozorovali snížení fertility při introgresi chromozomu X laboratorního kmene MSM/Ms odvozeného od *M. m. molossinus* do genomu C57BL/6J. Pomocí analýzy QTL (Quantitative Trait Loci) detekovali v distální části X chromozomu oblast související se snížením váhy varlat a dále tři lokusy (*Sha1*, *Sha2* a *Sha3* – Sperm head anomaly) související s morfologií hlaviček spermií. Největší signál potvrdili v centrální oblasti chromozomu X (lokus *Sha2*), přičemž tato oblast se shoduje jak s laboratorními výsledky (Storchová et al., 2004), tak i s výsledky z hybridní zóny (Payseur et al., 2004; Dufková et al., 2011 – Příloha 3; Macholán et al., 2011 – Příloha 2). Reciproká výměna, tedy introgrese X^{domesticus} na pozadí *musculus* hybridní dysfunkci nezpůsobuje, což dokazuje, že vznik epistatické interakce závisí také na původu chromozomu X a může být asymetrický (Orr, 1995; Good et al., 2008a,b).

Good et al. (2010) porovnávali expresi genů souvisejících s fertilitou/sterilitou u laboratorních kmenů odvozených od divokých myších populací (tzv. wild-derived strains) a jejich kříženců. Při křížení samic kmene PWK (*musculus*) a samců kmene LEWES (*domesticus*) získali opět sterilní F1 samce, kteří měli v porovnání s ostatními F1samci (LEWES × WSB = *domesticus* × *domesticus*, PWK × CZECHII = *musculus* × *musculus*, LEWES × PWK = samice *domesticus* × samec *musculus*) signifikantně redukováný počet zárodečných a postmeiotických buněk ve varlatech a značné poruchy vývoje zárodečného epitelu. U těchto sterilních samců prokázali rozsáhlou zvýšenou expresi genů po celém chromozomu X, zatímco u fertálních hybridů byla tato exprese normální. Tento výsledek opět potvrzuje epistatické interakce mezi X^{musculus} a Y^{domesticus}

nebo autozomy původem z *M. m. domesticus* a naznačuje důležitost transkripční regulace chromozomu X při vzniku samčí hybridní sterility. Hybridní sterilita samců může být totiž rovněž spojena s poruchami meiotické inaktivace chromozomu X. Tento chromozom je v samčí zárodečné línii inaktivován během raného stádia meiózy (Kelly et al., 2002; Hense et al., 2007). U myších spermatocytů dochází k meiotické inaktivaci chromozomu X v pachytene během homologního párování autozomů (Turner et al., 2005), přičemž většina chromozomu X (více než 80%) pak zůstává transkripčně suprimována během celého průběhu spermatogeneze (postmeiotická represe) (Namekawa et al., 2006). Mutace, které mohou způsobit narušení homologního párování autozomů během pachytene, mohou způsobit poruchu v meiotické inaktivaci nebo postmeiotické represi, což opět zvyšuje pravděpodobnost vzniku samčí (heterogametické) sterility (Homolka et al., 2007; Turner et al., 2007).

Pozici speciálních genů v myším genomu potvrzují také výsledky ze všech transektů hybridní zóny. Tyto výsledky konzistentně ukazují široké klíny pro autozomální markery a v porovnání s nimi velmi strmé úzké klíny pro většinu genů na pohlavních chromozomech naznačující silné působení přírodního výběru (Tucker et al., 1992; Dod et al., 1993; Payseur et al., 2004; Raufaste et al., 2005; Macholán et al., 2007, 2011 – Příloha 2; Teeter et al., 2008, 2010; Dufková et al., 2011 – Příloha 3).

Jedinou výjimkou z výše uvedených výsledků byl neobvyklý přechod chromozomu Y podél českého transektu. Na tento jev poprvé upozornili Munclinger et al. (2002), kteří sledovali výskyt deseti diagnostických markerů – sedmi autozomálních, mitochondriálního (gen *mt-Nd1*), X-vázaného (*Btk*) a Y-vázaného (*Zfy2*) na území České a Slovenské republiky. Tito autoři zjistili, že přechod chromozomu Y přes hybridní zónu v oblasti západních Čech a severovýchodního Bavorska byl velmi pozvolný, což bylo v rozporu s dosavadními poznatky z Dánska (Dod et al., 1993), Holštýnska (Prager et al., 1997), Bavorska (Tucker et al., 1992) a Bulharska (Vanlerberghe et al., 1986), kde tento chromozom vykazoval takřka nulovou introgresi. Následná podrobnější analýza ukázala, že introgrese chromozomu Y typu *musculus* je srovnatelná s genem vázaným na X (*Btk*), avšak linie kontaktu chromozomu Y obou typů ($Y^{musculus}/Y^{domesticus}$) je pootočena přibližně o 40° ve směru hodinových ručiček ve srovnání s kontaktní linií pro ostatní geny (blíže viz Figure 2 v Macholán et al., 2008 – Příloha 1). Dále se ukázalo, že tato neobvyklá introgrese chromozomu Y je spojena s vychýlením poměru pohlaví ve prospěch samců v porovnání s populacemi bez introgrese, což naznačuje, že by v česko-bavorské části myší

hybridní zóny mohlo docházet ke genetickému konfliktu mezi pohlavními chromozomy a případně i některými autozomálními geny (Macholán et al., 2008 – Příloha 1).

Intragenomický (genetický) konflikt nastává ve chvíli, kdy se určitý (mutantní) lokus úspěšně šíří do dalších generací na úkor svého homologního (normálního) protějšku, takže se v následující generaci objeví u více než 50 % potomstva. Tento jev, při kterém během meiózy dochází k porušení Mendelova zákona o segregaci alel, nazýváme segregací deformace (segregation distortion, SD) nebo meiotický tah (meiotic drive), expandující lokus pak „distorter“ nebo „driver“. Vzhledem k tomu, že meiotický tah negativně ovlivňuje ostatní lokusy, které nejsou s distorterem ve vazbě, jeho působení může být blokováno jedním nebo více supresory (modifikátory), jejichž vznik je zpravidla podporován přírodním výběrem vzhledem k negativnímu vlivu distorterů na fitness jedince.

Nejznámějšími příklady meiotického tahu jsou tzv. SD systém u *Drosophila melanogaster* a *t*-haplotyp u myši domácí. Komplex SD genů se nachází na druhém chromozomu u octomilky a obsahuje tři pevně vázané lokusy – *Sd* (*Segregation distorter*), *E(Sd)* (*Enhancer of segregation distorter*) a *Rsp* (*Responder*) (Palapoli a Wu, 1996). SD geny se úspěšně přenáší do více než 95% potomstva (Hartl a Hartung, 1975). *t*-haplotyp je asi 20 cM dlouhý úsek v proximální oblasti myšího chromozomu 17, který způsobuje vychýlení segregací poměru, v homozygotním stavu však také samčí sterilitu. Na rozdíl od SD genů octomilky se v myším genomu nevyskytují supresory *t*-haplotypu, selekce však vedla ke kumulaci série mutací způsobující prenatalní letalitu, která brání rychlému šíření *t*-haplotypu v populaci. Celý komplex zahrnuje několik *Tcd* genů (*t complex distorters*), jejichž účinek je aditivní a jejichž počet zvyšuje pravděpodobnost přenosu klíčového genu *Tcr* (*t-complex responder*). Crossing-overu a tedy rekombinaci s homologním chromozomem divokého typu (+) brání 4 paracentrické inverze (Schimenti, 2000). Heterozygotní samci tvoří stejný počet spermií *t* a +, ale + spermie (bez *t*-haplotypu) mají defektní motilitu (Olds-Clarke a Johnson, 1993), takže se *t*-haplotyp dostane do následující generace až v 95%. Spermie samců s kombinací *t/t* mají deformovaný bičík, což se projevuje neschopností pohybu a tedy úplnou sterilitou jedince.

Segregační distorter může vzniknout na jakémkoli chromozomu, ale ve většině pozorovaných případů vzniká na pohlavních chromozomech, zřejmě kvůli nízké frekvenci/kompletní absenci rekombinace mezi chromozomy X a Y (Hurst a Pomiankowski, 1991). Pokud je segregační distorter přítomen na X nebo Y, je výsledkem genetického konfliktu porucha rovnovážného

poměru pohlaví. Jak bylo výše uvedeno, selekce bude podporovat vznik supresorových mutací, které budou vracet poměr pohlaví do rovnovážného stavu. Avšak stejně tak můžeme předpokládat vznik mutací, které budou vychylovat poměr pohlaví v opačném směru. Vzniká tak dynamický systém, ve kterém probíhají neustálé „závody ve zbrojení“ (arms race), podobné ekologickým interakcím mezi hostitelem a parazitem nebo mezi predátorem a kořistí. Tyto závody ve zbrojení mohou být potenciálně zodpovědné za rychlou divergenci alopatrických populací po jejich separaci geografickou bariérou. V případě sekundárního kontaktu mezi takto divergovanými populacemi může např. X-vázaný distorter inaktivovat spermiie nesoucí chromozom Y a naopak (Orr a Presgraves, 2000; Meiklejohn a Tao, 2009), což se projeví sterilitou samčích hybridů. Meiotický tah tak může vést k hybridní nekompatibilitě a postzygotické izolaci v souladu s Haldaneovým pravidlem (Frank, 1991; Hurst a Pomiankowski, 1991).

Přestože geny zapojené do genetického konfliktu nebyly na pohlavních chromozomech myši domácí dosud detekovány, jejich existence je zřejmá. Abnormální introgrese chromozomu Y v oblasti západních Čech a severovýchodního Bavorska však ukazuje na jiný zajímavý fenomén. Dosud jsme předpokládali, že genetický konflikt a s ním spojené závody ve zbrojení mohou vést k rychlé divergenci a reprodukční izolaci. Lze však předpokládat i opačný důsledek tohoto procesu při sekundárním kontaktu. Evoluce supresorů totiž může v rámci dané populace účinně potlačovat účinek driveru, když je však tento element konfrontován s „naivním“ genetickým pozadím u jedinců z druhé hybridizující populace, může se naopak začít v této populaci rychle šířit (Macholán et al., 2008, 2011 – Příloha 1 a 2). Ukazuje se tak, že genetická architektura ovlivňující dynamiku sekundárního kontaktu dvou divergentních populací může být poměrně složitá, tvořená mozaikou neutrálních, negativně selektovaných (izolačních, speciačních), pozitivně selektovaných a expandujících („antispeciačních“) genů. Účinek těchto „antispeciačních“ lokusů se nemusí kvůli těsné vazbě s izolačními geny projevit, jakmile však dojde k (byť jen velmi nepravděpodobné) rekombinaci mezi nimi, tyto geny mohou projevit svůj skrytý potenciál a začít masivně pronikat přes hybridní zónu a tím uniknout vlivu vlastních supresorů.

Je stále více patrné, že studium speciace není úkolem jednoduchým, že jde o komplexní systém akcí a reakcí, kterému zatím rozumíme jen velmi málo. Jasně ale je, že hlavní roli v tomto procesu hrají pohlavní chromozomy, které jsou klíčem k rozluštění mnoha nezodpovězených

otázek. Studium hybridních zón nám v tom může výrazně napomoci. Na druhou stranu je však třeba mít na paměti, že v přirozených podmínkách se může významně projevit vliv některých náhodných faktorů (např. odlišné historie hybridní zóny v různých oblastech, genetického driftu, lokálních geografických podmínek, nedostatečného sběru vzorků), které mohou výrazně zkreslovat výsledné odhady klíčových evolučních parametrů (Dufková et al., 2011 – Příloha 3). Je proto vhodné porovnávat výsledky získané z více geograficky oddělených transektů a tyto studie „přirodních laboratoří“ kombinovat s laboratorními experimenty prováděnými v kontrolovaných podmínkách. Jen tak je možné skutečně porozumět genetickému základu a architektuře reprodukčních izolací.

SOUHRN DIZERTAČNÍ PRÁCE

Identifikace oblastí genomu, které souvisejí s tvorbou reprodukčních bariér, a porozumění jejich genetickému základu jsou klíčem pro pochopení speciace. Excelentním nástrojem pro studium vzniku reprodukčních bariér jsou hybridní zóny, přirozené systémy, ve kterých byl proces speciace již započatý, ale reprodukční izolace ještě není kompletní. Neúplnost reprodukční bariéry způsobuje pronikání jednotlivých znaků přes zónu a vznik alelového gradientu neboli klíny, charakteristické pro každý znak. Bereme-li v úvahu jednoduchý případ tzv. vnitřní selekce znevýhodňující hybridní jedince v důsledku nekompatibility mezi hybridizujícími genomy, pak podle teorie klin je vztah mezi mírou selekce působící na daný lokus a šířkou příslušné klíny poměrně přímočarý: čím je selekce silnější, tím je pronikání alel přes zónu (introgrese) omezenější a klína tedy užší. Známe-li pozici jednotlivých markerů v genomu, lze tímto způsobem teoreticky snadno lokalizovat geny nebo oblasti způsobující reprodukční bariéry („speciační geny“). Dosavadní studium ukazuje, že geny zapojené do reprodukčních bariéře nacházejí především na pohlavních chromozomech.

Ve své dizertační práci jsem se zabývala introgresí pohlavních chromozomů přes hybridní zónu mezi dvěma poddruhy myši domácí (*Mus musculus musculus* a *M. m. domesticus*) v oblasti západních Čech a severovýchodního Bavorska a posouzením jejich potenciální rolí při speciaci. Naše výsledky potvrdily, že většina studovaných markerů na chromozomu X je charakterizována velmi strmými klínami, což naznačuje působení silné selekce. Ve studované oblasti jsme dále zjistili neobvyklou introgresi chromozomu Y typu *musculus* spojenou s vychýlením rovnovážného poměru pohlaví. Tyto dva jevy lze vysvětlit existencí genetického konfliktu mezi pohlavními chromozomy. Analýzou 24 X-vázaných markerů jsme potvrdili, v souladu s laboratorními experimenty i výsledky z ostatních studovaných transektů myší hybridní zóny, velmi silnou selekci v centrální oblasti chromozomu X a tím i předpoklad, že tento segment obsahuje jeden nebo více speciačních genů. Naopak charakter introgrese některých dalších markerů naznačuje možnost recentního pohybu zóny západním směrem.

Naše výsledky tak ukázaly, že genetická architektura myší hybridní zóny je velmi komplexní, tvořena mozaikou neutrálních, negativně selektovaných, pozitivně selektovaných a expandujících (homogenizačních) genů. Dále jsme prokázali, že charakter hybridní zóny mohou výrazně ovlivňovat i nesystematické procesy (např. genetický drift, lokální geografické bariéry, množství vzorků a lokalit), které mohou skutečnou sílu selekce zkreslovat. Porovnáním introgrese

chromozomu X na dvou geograficky oddělených transektech jsme se snažili oddělit působení selekce od vlivů stochastických a prokázali jsme značný vliv způsobu sběru vzorků („sampling design“) na odhad základních parametrů (šířka klíny). Dále jsme prokázali, že ke správnému odhadu přesné polohy a orientace hybridní zóny je nutný odchyt ve dvourozměrném (nikoli pouze lineárním) transektu a poukázali na možná rizika spojená s analýzou dat (např. existence složitých věrohodnostních profilů u víceparametrových modelů), navrhli metodické inovace (využití programu prostorové genetické analýzy ve 2D, metoda Bartonovy konkordance) a porovnali je s tradičními přístupy (analýza klín podél geografického transektu, metoda genomických klín).

LITERATURA

Abe, K., Noguchi, H., Tagawa, K., Yuzuriha, M., Toyoda, A., Kojima, T., Ezawa, K., Saitou, N., Hattori, M., Sakaki, Y., Moriwaki, K., Shiroishi, T. 2004. Contribution of Asian mouse subspecies *Mus musculus molossinus* to genomic constitution of strain C57BL/6J, as defined by BAC-end sequence-SKIP analysis. *Genome Res.* 14:2439–2447.

Arnold, M. L., Bennet, B. D., Zimmer, E. A. 1990. Natural hybridization between *Iris fulva* and *I. hexagona*: pattern of ribosomal DNA variation. *Evolution*, 44: 1512-1521.

Arnold, M. L. 1997. *Natural Hybridization and Evolution*. Oxford University Press, New York, 215 p.

Auffray, J.-C., Vanlerberghe, F., Britton-Davidian, J. 1990. The house mouse progression in Euradia: a paleontological and archaeozoological approach. *Biol. J. Linn. Soc.*, 41: 13-25.

Barbash, D. A., Siino, D. F., Tarone, A. M., Roote, J. 2003. A rapidly evolving MYB-related protein causes species isolation in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100: 5302-5307.

Barbash, D. A., Awadalla, P., Tarone, A. M. 2004. Functional divergence caused by ancient positive selection of a *Drosophila* hybrid incompatibility locus. *PLoS Biol.*, 2: 839-848.

Barton, N. H., Hewitt, G. M. 1985. Analysis of hybrid zones. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 16: 113-148.

Barton, N. H., Hewitt, G. M. 1989. Adaptation, speciation and hybrid zones. *Nature*, 341: 497-503.

Bayes, J. J., Malik, J. S. 2009. Altered heterochromatin binding by a hybrid sterility protein in *Drosophila* sibling species. *Science*, 326: 1538-1541.

Bímová, B., Karn, R. C., Piálek, J. 2005. The role of salivary androgen-binding protein in reproductive isolation between two subspecies of house mouse: *Mus musculus musculus* and *Mus musculus domesticus*. *Biol. J. Linn. Soc.*, 84: 349-361.

Boursot, P., Auffray, J.-C., Britton-Davidian, J., Bonhomme, F. 1993. The evolution of house mice. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 24: 119-152.

Boursot, P., Din, W., Anand, R., Darviche, D., Dod, B., von Deimling, F., Talwar, G. P., Bonhomme, F. 1996. Origin and radiation of the house mouse: mitochondrial DNA phylogeny. *J. Evol. Biol.*, 9: 391-415.

Božíková, E., Munclinger, P., Teeter, K. C., Tucker, P. K., Macholán, M., Piálek, J. 2005. Mitochondrial DNA in the hybrid zone between *Mus musculus musculus* and *Mus musculus domesticus*: a comparison of two transects. *Biol. J. Linn. Soc.*, 84: 363-378.

- Britton-Davidian, J., Fel-Clair, F., Lopez, J., Alibert, P., Boursot, P. 2005. Postzygotic isolation between two European subspecies of the house mouse: estimates from fertility patterns in wild and laboratory-bred hybrids. *Biol. J. Linn. Soc.*, 84: 379-393.
- Brothers, A. N., Delph, L. F. 2010. Haldane's rule is extended to plants with sex chromosomes. *Evolution*, 64: 3643-3648.
- Counterman, B. A., Ortiz-Barrientos, D., Noor, M. A. F. 2004. Using comparative genomic data to test for fast-X evolution. *Evolution*, 58: 656-660.
- Coyne, J. A., Charlesworth, B. 1986. Location of an X-linked factor causing sterility in male hybrids of *Drosophila – simulans* and *Drosophila – mauritiana*. *Heredity*, 57: 243-246.
- Coyne, J. A., Mah, K., Crittenden, A. 1994. Genetics of pheromonal difference contributing to reproductive isolation in *Drosophila*. *Science*, 265: 1461-1464.
- Coyne, J. A., Orr, H. A. 1998. The evolutionary genetics of speciation. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, 353: 287-305.
- Coyne, J. A., Orr, H. A. 2004. *Speciation*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Cucchi, T., Vigne, J.-D., Auffray, J.-C. 2005. First occurrence of the house mouse (*Mus musculus domesticus* Schwarz and Schwarz, 1943) in the Western Mediterranean: a zooarcheological revision of subfossil occurrences. *Biol. J. Linn. Soc.*, 84: 429-445.
- Dietrich, W. F., Miller, J., Steen, R., Merchant, M. A., Damron-Boles, D., Husain, Z., Dredge, R., Daly, M. J., Ingalls, K. A O'Connor, T. J. 1996. A comprehensive genetic map of the mouse genome. *Nature*, 380: 149-152.
- Din, W., Anand, R., Boursot, P., Darviche, D., Dod, B., Jouvin-Marche, E., Orth, A., Talwar, G. P., Cazenave, P.-A., Bonhomme, F. 1996. Origin and radiation of the house mouse: clues from nuclear genes. *J. Evol. Biol.*, 9: 519–539.
- Dobzhansky, T. 1937. *Genetics and the Origin of Species*. Columbia Univ. Press, New York.
- Dod, B., Herniin, L. S., Boursot, P., Chapman, V. H., Nielsen, J. T., Bonhomme, F. 1993. Counterselection on sex chromosomes in the *Mus musculus* European hybrid zone. *J. Evol. Biol.*, 6: 529–546.
- Dod, B., Smadja, C., Karn, R. C., Boursot, P. 2005. Testing for selection on the androgen-binding protein in the Danish mouse hybrid zone. *Biol. J. Linn. Soc.*, 84: 447-459.
- Dufková, P., Macholán, M., Piálek, J. 2011. Inference of selection and stochastic effects in the house mouse hybrid zone. *Evolution*, in press, doi: 10.1111/j.1558-5646.2011.01222.x

- Endler, J. A. 1977. *Geographic variation, speciation and clines*. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ.
- Forejt, J., Ivanyi, P. 1974. Genetic studies on male sterility of hybrids between laboratory and wild mice (*Mus musculus* L.) *Genet. Res.*, 24: 189-206.
- Forejt, J., Vincek, V., Klein, J., Lehrach, H., Loudová-Micková, M. 1991. Genetic mapping of the t-complex region on mouse chromosome 17 including the Hybrid sterility-1 gene. *Mamm. Genome*, 1: 84-91.
- Frank, S. A. 1991. Divergence of meiotic drive-suppression systems as an explanation for sex-biased hybrid sterility and inviability. *Evolution*, 45: 262–267.
- Geraldes, A., Basset, P., Gibson, B., Smith, K. L., Harr, B., Yu, H.-T., Bulatova, N., Ziv, Y., Nachman, M. W. 2008. Inferring the history of speciation in house mice from autosome, X-linked, Y-linked and mitochondrial genes. *Mol. Ecol.*, 17: 5349-5363.
- Good, J. M., Dean, M. D., Nachman, M. W. 2008a. A complex genetic basis to X-linked hybrid male sterility between two species of house mice. *Genetics*, 179: 2213-2228.
- Good, J. M., Giger, T., Dean, M. D., Nachman, M. W. 2010. Widespread Over-Expression of the X Chromosome in Sterile F₁ Hybrid Mice. *PLoS Genet.*, 6: e1001148.
- Good, J. M., Handel, M. A., Nachman, M. W. 2008b. Asymmetry and polymorphism of hybrid male sterility during early stages of speciation in house mice. *Evolution*, 62: 50-65.
- Haldane, J. B. S. 1922. Sex ratio and unisexual sterility in animal hybrids. *J. Genet.*, 12:101–109.
- Harr, B. 2006. Genomic islands of differentiation between house mouse subspecies. *Genome Res.*, 16: 730-737.
- Harrison, R. G. 1990. Hybrid zones: windows on evolutionary process. *Oxford Surv. Evol. Biol.*, 7: 69-128.
- Harrison, R. G. 1993. Hybrids and hybrid zones: Historical perspective. Pp. 3-12. In Harrison, R. G. (ed.). *Hybrid Zones and the Evolutionary Process*. Oxford Univ. Press, New York.
- Hartl, D. L., Hartung, N. 1975. High frequency of one element of Segregation Distorter in natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 29: 512-518.
- Hayashi, K., Yoshida, K., Matsui, Y. 2005. A histone H3 methyltransferase controls epigenetic events required for meiotic prophase. *Nature*, 438: 374-378.
- Hense, W., Baines, J. F., Parsch, J. 2007. X chromosome inactivation during *Drosophila* spermatogenesis. *PLoS Biol.*, 5: 2288-2295.

Homolka, D., Ivánek, R., Čapková, J., Jansa, P., Forejt, J. 2007. Chromosomal rearrangement interferes with meiotic X chromosome inactivation. *Genome Res.*, 17: 1431-1437.

Hurst, L. D., Pomiankowski, A. 1991. Causes of sex ratio bias may account for unisexual sterility in hybrids: a new explanation of Haldane's rule and related phenomena. *Genetics*, 128: 841-858.

Hunt, W. G., Selander, R. K. 1973. Biochemical genetics of hybridisation in European house mice. *Heredity*, 31: 11-33.

Jones, E. P., van der Kooij, J., Solheims, R., Searle, J. B. 2010. Norwegian house mice (*Mus musculus musculus/domesticus*): distributions, routes of colonization and patterns of hybridization. *Mol. Ecol.*, 19: 5252-5264.

Kelly, W. G., Schaner, C. E., Dernburg, A. F., Lee, M. H., Kim, S. K., Villeneuve, A. M., Reinke, V. 2002. X-chromosome silencing in the germline of *C. elegans*. *Development*, 129: 479-492.

Kondrashov, A. S. 2003. Accumulation of Dobzhansky-Muller incompatibilities within a spatially structured population. *Evolution*, 57: 151-153.

Laurie, C. C. 1997. The weaker sex is heterogametic: 75 years of Haldane's rule. *Genetics*, 147: 937-951.

Lindblad-Toh, K., Winchester, E., Daly, M. J., Wang, D. G., Hirschhorn, J. N., Laviolette, J. P., Ardlie, K., Reich, D. E., Robinson, E., Sklar, P., Shah, N., Thomas, D., Fan, J. B., Gingeras, T., Warrington, J., Patil, N., Hudson, T. J., Lander, E. S. 2000. Large-scale discovery and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the mouse. *Nature Genet.*, 24:381-386.

Macholán, M., Baird, S. J. E., Dufková, P., Munclinger, P., Bímová Vošlajerová, B., Piálek, J. 2011. Assessing mustilocus introgression patterns: A case study on the mouse X chromosome in central Europe. *Evolution*, in press, doi: 10.1111/j.1558-5646.2011.01228.x

Macholán, M., Baird, S. J. E., Munclinger, P., Dufková, P., Bímová, B., Piálek, J. 2008. Genetic conflict outweighs heterogametic incompatibility in the mouse hybrid zone? *BMC Evol. Biol.*, 8: 271-284.

Macholán, M., Kryštufek, B., Vohralík, V. 2003. The location of the *Mus musculus/M.domesticus* hybrid zone in the Balkans: Clues from morphology. *Acta Theriol.*, 48: 177-188.

Macholán, M., Munclinger, P., Šugerková, M., Dufková, P., Bímová, B., Božíková, E., Zima, J., Piálek, J. 2007. Genetic analysis of autosomal and X-linked markers across a mouse hybrid zone. *Evolution*, 61:746-771.

Macholán, M., Zima, J. 1994: *Mus domesticus* in Western Bohemia: a new mammal for the Czech Republic. *Folia Zool.*, 43: 39-41.

Malitschek, B., Fornzler, D., Schartl, M. 1995. Melanoma formation in *Xiphophorus*: A model system for the role of receptor tyrosine kinases in tumorigenesis. *BioEssays*, 17: 1017-1023.

- Mallet, J., Barton, N., Lamas, G., Santisteban, J., Muedas, M., Eeley, H. 1990. Estimates of selection and gene flow from measures of cline width and linkage disequilibrium in *Heliconius* hybrid zones. *Genetics*, 124: 921-936.
- Mayr, E. 1942. *Systematics and the Origin of Species*. Columbia Univ. Press, New York.
- Meiklejohn, C. D., Tao, Y. 2009. Genetic conflict and sex chromosome evolution. *Trends Ecol. Evol.*, 25: 215-223.
- Mihola, O., Trachtulec, Z., Vlček, C., Schimenti, J. C., Forejt, J. 2009. A mouse speciation gene encodes a meiotic Histone H3 Methyltransferase. *Science*, 323: 373-375.
- Moore, W. S., Price, J. T. 1993. Nature of selection in the northern flicker hybrid zone and its implications for speciation theory. Pp. 196-225. In Harrison, R. G. (ed.). *Hybrid Zones and the Evolutionary Process*. Oxford Univ. Press, New York.
- Mouse Genome Sequencing Consortium. 2002. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*, 420: 520-562.
- Muller, H. J. 1940. Bearing of the *Drosophila* work on systematics. Pp. 185-268. In Huxley, J. S. (ed.). *The New Systematics*. Clarendon Press, Oxford.
- Muller, H. J. 1942. Isolating mechanisms, evolution, and temperature. *Biol. Symp.*, 6: 71-125.
- Munclinger, P., Božíková, E., Šugerková, M., Piálek, J., Macholán, M. 2002. Genetic variation in house mice (*Mus*, Muridae, Rodentia) from the Czech and Slovak Republic. *Folia Zool.*, 51: 81-92.
- Nagylaki, T. 1975. Conditions for the existence of clines. *Genetics*, 80: 595-615.
- Nagylaki, T. 1976. Clines with variable migration. *Genetics*, 83: 867-886.
- Namekawa, S. H., Park, P. J., Zhang, L.-F., Shima, J. E., McCarrey, J. R., Griswold, M. D., Lee, J. T. 2006. Postmeiotic sex chromatin in the male germline of mice. *Curr. Biol.*, 16: 660-667.
- Oka, A., Mita, A., Sakurai-Yamatani, N., Yamamoto, A., Takagi, N., Takano-Shimizu, R., Toshimori, K., Moriwaki, K., Shiroishi, T. 2004. Hybrid breakdown cause by substitution of the X chromosome between two mouse subspecies. *Genetics*, 166: 913-924.
- Olds-Clarke, P., Johnson, L. 1993. *T* haplotypes in the mouse compromise sperm flagellar function. *Dev. Biol.*, 155: 14-25.
- Orr, H. A. 1995. The population genetics of speciation: The evolution of hybrid incompatibilities. *Genetics*, 139: 1805-1813.
- Orr, H. A. 2005. The genetic basis of reproductive isolation: Insights from *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102: 6522-6526.

- Orr, H. A., Presgraves, D. C. 2000. Speciation by postzygotic isolation: forces, genes and molecules. *BioEssays*, 22: 1085-1094.
- Orr, H. A., Turelli, M. 2001. The evolution of postzygotic isolation: accumulating Dobzhansky-Muller incompatibilities. *Evolution*, 55: 1085-1094.
- Palapoli, M. F., Wu, Ch-I. 1996. Rapid evolution of a coadapted gene complex: evidence from the *Segregation Distorter (SD)* system of meiotic drive in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 143: 1675-1688.
- Payseur, B. A., Krenz, J. G., Nachman, M. W. 2004. Differential patterns of introgression across the X chromosome in a hybrid zone between two species of house mice. *Evolution*, 58: 2064-2078.
- Pletcher, M. T., McClurg, P., Batalov, S., Su, A. I., Barnes, S. W., Lagler, E., Korstanje, R., Wang, X. S., Nusskern, D., Bogue, M. A., Mural, R. J., Paigen, B., Wiltshire, T. 2004. Use of a dense single nucleotide polymorphism map for in silico mapping in the mouse. *PLoS Biol.*, 2: 2159-2169.
- Prager, E. M., Sage, R. D., Gyllenstein, U., Thomas, W. K., Hübner, R., Jones, C. S., Noble, L., Searle, J. B., Wilson, A. C. 1993. Mitochondrial DNA sequence diversity and the colonization of Scandinavia by house mice from East Holstein. *Biol. J. Linn. Soc.*, 50: 85-122.
- Prager, E. M., Boursot, P., Sage, R. D. 1997. New assay for Y chromosome and p53 pseudogene clines among East Holstein house mice. *Mamm. Genome*, 8: 279-281.
- Raufaste, N., Orth, A., Belkhir, K., Senet, D., Smadja, C., Baird, S. J. E., Bonhomme, F., Dod, B., Boursot, P. 2005. Inferences of selection and migration in the Danish house mouse hybrid zone. *Biol. J. Linn. Soc.*, 84: 593-616.
- Rieseberg, L. H., Whitton, J., Gardner, K. 1999. Hybrid zones and the genetic architecture of a barrier to gene flow between two wild sunflower species. *Genetics*, 152: 713-727.
- Sage, R. D., Atchley, W. R., Capanna, E. 1993. House mice as models in systematic biology. *Syst. Biol.*, 42: 523-561.
- Schimenti, J. 2000. Segregation distortion of mouse *t* haplotypes - the molecular basis emerges. *Trends in Genetics*, 16: 240-243.
- She, J. X., Bonhomme, F., Boursot, P., Thaler, L., Catzeflis, F. 1990. Molecular phylogenies in the genus *Mus*: comparative analysis of electrophoretic, scnDNA hybridization, and mtDNA RFLP data. *Biol. J. Linn. Soc.*, 41: 83-103.
- Shifman, S., Bell, J. T., Copley, R. R., Taylor, M. S., Williams, R. W., Mott, R., Flint, J. 2006. A high-resolution single nucleotide polymorphism genetic map of the mouse genome. *PLoS Biol.*, 4: 2227-2237.
- Slatkin, M. 1973. Gene flow and selection in a cline. *Genetics*, 75: 733-756.

- Slatkin, M. 1975. Gene flow and selection on a two-locus system. *Genetics*, 81: 787-802.
- Storchová, R., Gregorová, S., Buckiová, D., Kyselová, V., Divina, P., Forejt, J. 2004. Genetic analysis of X-linked hybrid sterility in the house mouse. *Mamm. Genome*, 15: 515–524.
- Szymura, J., M., Barton, N. H. 1991. The genetic structure of the hybrid zone between the fire-bellied toads *Bombina orientalis* and *B. variegata*: comparisons between transect and between loci. *Evolution*, 45: 237-261.
- Tao, Y., Chen, S., Hartl, D. L., Laurie, C. C. 2003. Genetic dissection of hybrid incompatibilities between *Drosophila simulans* and *D. mauritiana*. I. Differential accumulation of hybrid male sterility effects on the X and autosomes. *Genetics*, 164: 1383–1397.
- Teeter, K. C., Payseur, B. A., Harris, L. W., Bakewell, M. A., Thibodeau, L. M., O'Brien, J. E., Krenz, J. G., Sans-Fuentes, M. A., Nachman, M. W., Tucker, P. K. 2008. Genome-wide patterns of gene flow across a house mouse hybrid zone. *Genet. Res.*, 18: 67–76.
- Teeter, K. C., Thibodeau, L. M., Gompert, Z., Buerkle, C. A., Nachman, M. W., Tucker, P. K. 2010. The variable genomic architecture of isolation between hybridizing species of house mouse. *Evolution*, 64: 472-485.
- Ting, C.-T., Tsaou, S.-C., Wu, M.-L., Wu, C.-I. 1998. A Rapidly Evolving Homeobox at the Site of a Hybrid Sterility Gene. *Science*, 282: 1501-1504.
- Tucker, P. K., Sage, R. D., Warner, J., Wilson, A. C., Eicher, E. M. 1992. Abrupt cline for sex chromosomes in a hybrid zone between two species of mice. *Evolution*, 46: 1146–1163.
- Turner, J. M. A. 2007. Meiotic sex chromosome inactivation. *Development*, 134: 1823-1831.
- Turner, J. M. A., Mahadevaiah, S. K., Fernandez-Capetillo, O., Nussenzweig, A., Xu, X., Deng, C. X., Burgoyne, P. S. 2005. Silencing of unsynapsed meiotic chromosomes in the mouse. *Nat. Genet.*, 37: 41-47.
- Turreli, M., Orr, H. A. 1995. The dominance theory of Haldane's rule. *Genetics*, 140: 389-402.
- Turreli, M., Orr, H. A. 2000. Dominance, epistasis and the genetics of postzygotic isolation. *Genetics*, 154: 1663-1679.
- Vanlerberghe, F., Boursot, P., Nielsen, J. T., Bonhomme, F. 1988. A steep cline for mitochondrial DNA in Danish mice. *Genet. Res.*, 52: 185-193.
- Vanlerberghe, F., Dod, B., Boursot, P., Bellis, M., Bonhomme, F. 1986. Absence of Y-chromosome introgression across the hybrid zone between *Mus musculus domesticus* and *Mus musculus musculus*. *Genet. Res.*, 48: 191-197.

Vošlajerová Bímová, B., Macholán, M., Baird, S. J. E., Munclinger, P., Dufková, P., Laukaitis, C. M., Karn, R. C., Luzynski, K., Tucker, P. K., Piálek, J. 2011. Reinforcement selection acting on the European house mouse hybrid zone. *Mol. Ecol.*, accepted with minor revision.

Wittbrodt, J., Adam, D., Malitschek, B., Mäueler, W., Raulf, F., Telling, A., Robertson, S. M., Schartl, M. 1989. Novel putative receptor tyrosine kinase encoded by the melanoma-inducing *Tu* locus in *Xiphophorus*. *Nature*, 341: 415-421.

Wu, C.-I., Davis, A. W. 1993. Evolution of postmating reproductive isolation: the composite nature of Haldane's rule and its genetic bases. *Am. Nat.*, 142: 187-212

Wu, C.-I., Ting, C.-T. 2004. Genes and speciation. *Nat. Rev. Genet.*, 5: 114-122.

Yang, H., Wang, J.R., Didion, J. P., Buus, R. J., Bell, T. A., Welsh, C. E., Bonhomme, F., Yu, A. H.-T., Nachman, M., Piálek, J., Tucker, P., Boursot, P., McMillan, L., Churchill, G. A., Pardo-Manuel de Villena, F. 2010. Subspecific origin and haplotype diversity in the laboratory mouse. *Nat. Genet.*, submitted.

Yonekawa, H., Moriwaki, K., Gotoh, O., Miyashita, N., Matsushima, Y., Shi, L. M., Cho, W. S., Zhen, X. L., Tagashira, Y. 1988. Hybrid origin of Japanese mice "*Mus musculus molossinus*": evidence from restriction analysis of mitochondrial DNA. *Mol. Biol. Evol.*, 1: 63-78.

Genetic conflict outweighs heterogametic incompatibility in the mouse hybrid zone?

Miloš Macholán^{*1,2}, Stuart JE Baird^{3,4}, Pavel Munclinger⁵, Petra Dufková^{6,7}, Barbora Bímová⁷
and Jaroslav Piálek

¹Laboratory of Mammalian Evolutionary Genetics, Institute of Animal Physiology and Genetics, Academy of Sciences of the Czech Republic (ASCR), Brno, Czech Republic ²Institute of Botany and Zoology, Masaryk University, Brno, Czech Republic

³INRA, Centre de Biologie et de Gestion des Populations, Campus International de Baillarguet, Montferrier-sur-Lez, France

⁴CIBIO, Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos, Campus Agrário de Vairão, Vairão, Portugal

⁵Biodiversity Research Group, Department of Zoology, Faculty of Science, Charles University, Prague, Czech Republic

⁶Department of Genetics, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic

⁷Department of Population Biology, Institute of Vertebrate Biology, ASCR, Studenec, Czech

* Corresponding author

(Received: 20 March 2008, Accepted: 3 October 2008)

Podíl P. Dufkové: 17% (1/6)

Published: *BMC Evolutionary Biology* (8): 271-284

ABSTRACT

The *Mus musculus musculus*/*M. m. domesticus* contact zone in Europe is characterised by sharp frequency discontinuities for sex chromosome markers at the centre of wider clines in allozyme frequencies. We identify a triangular area (approximately 330 km²) where the *musculus* Y chromosome introgresses across this front for up to 22 km into *domesticus* territory. Introgression of the Y chromosome is accompanied by a perturbation of the census sex ratio: the sex ratio is significantly female biased in *musculus* localities and *domesticus* localities lacking Y

chromosome introgression. In contrast, where the *musculus* Y is detected in *domesticus* localities, the sex ratio is close to parity, and significantly different from both classes of female biased localities. The geographic position of an abrupt cline in an X chromosome marker, and autosomal clines centred on the same position, seem unaffected by the *musculus* Y introgression. We conclude that sex ratio distortion is playing a role in the geographic separation of speciation genes in this section of the mouse hybrid zone. We suggest that clines for genes involved in sex-ratio distortion have escaped from the centre of the mouse hybrid zone, causing a decay in the barrier to gene flow between the two house mouse taxa.

ABSTRAKT

Evropská hybridní zóna mezi *Mus musculus musculus*/*M. m. domesticus* je charakterizována strmými klinami pro pohlavní chromozomy a pozvolnějsími širšími klinami pro alozymy. Identifikovali jsme trojúhelníkovou oblast (přibližně 330 km²), kde chromozom Y typu *musculus* proniká do vzdálenosti 22km do areálu *domesticus*. Introgrese chromosomu Y^{*musculus*} je spojená s vychýlením rovnovážného poměru pohlaví: v *musculus* lokalitách a lokalitách *domesticus* bez introgrese chromosomu Y^{*musculus*} je signifikantně více samic. Naopak v *domesticus* lokalitách, kde k introgresi chromosomu Y^{*musculus*} dochází, je poměr pohlaví téměř v rovnováze a je signifikantně odlišný od obou výše popsaných skupin. Geografické pozice středu kliny pro X-vázaný marker a markery autozomální se shodují a introgrese Y^{*musculus*} pravděpodobně nejsou ovlivněny.

Usuzujeme, že vychýlení poměru pohlaví hraje roli při geografické separaci speciálních genů v této oblasti myší hybridní zóny. Navrhujeme teorii, že klíny pro geny související s vychýlením rovnovážného poměru pohlaví „unikly“ z centra myší hybridní zóny, což způsobuje rozpadání bariér toku genů mezi oběma myšími poddruhy.

Assessing multilocus introgression patterns: a case study on the mouse X chromosome in central Europe

Miloš Macholán^{1,2}, Stuart J. E. Baird³, Petra Dufková^{4,5}, Pavel Munclinger⁶, Barbora Vošlajerová Bímová^{1,4} and Jaroslav Piálek⁴

¹*Laboratory of Mammalian Evolutionary Genetics, Institute of Animal Physiology and Genetics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno, Czech Republic*

²*E-mail: macholan@iach.cz*

³*CIBIO, University of Porto, Campus Agrário de Vairão, Vairão, Portugal*

⁴*Department of Population Biology, Institute of Vertebrate Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Studenec, Czech Republic*

⁵*Department of Genetics, Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic*

⁶*Biodiversity Research Group, Department of Zoology, Faculty of Science, Charles University in Prague, Czech Republic*

(Received: 24 September 2010, Accepted: 16 December 2010)

Podíl P. Dufkové: 17% (1/6)

In press: *Evolution*, doi: 10.1111/j.1558-5646.2011.01228.x

ABSTRACT

Multilocus hybrid zone (HZ) studies predate genomics by decades. The power of early methods is becoming apparent now large datasets are commonplace. Relating introgression along a chromosome to evolutionary process is challenging: while reduced introgression regions may indicate speciation genes, this pattern may be obscured by asymmetric introgression of linked invasive genes. Further, HZ movement may form salients and leave islands in its wake. Barton's concordance was proposed 24 years ago for assessing introgression where geographic patterns are complex. The geographic axis of introgression is replaced with the hybrid index. We compare this, a recently proposed genomic clines

approach, and two-dimensional (2D) geographic analyses, for 24 X chromosome loci of 2873 mice from the central-European house mouse HZ. In 2D, 14 loci show linear contact, seven precisely matching previous studies. Four show introgression islands to the east of the zone, suggesting past westward zone movement, two show westward salients. Barton's concordance both recovers and refines this information. A region of reduced introgression on the central X is supported, despite X centromere-proximal male-biased westward introgression matching a westward 2D geographic salient. Genomic clines results are consistent regarding introgression asymmetries, but otherwise more difficult to interpret. Evidence for genetic conflict is discussed.

ABSTRAKT

Studie hybridních zón (HZ) založené na více lokusech předcházely o několik desetiletí nástup genomiky. Dnes, kdy se velké datové soubory stávají běžnou záležitostí, se ukazuje potenciál starších metod. Nalézt vztah míry introgrese různých částí chromozomu a evolučního procesu je podnětné: zatímco oblasti charakterizované sníženou introgresí mohou indikovat přítomnost speciálních genů, celkový obraz může být zastřen asymetrickou introgresí vázaných invazivních genů, tj. genů s masivní introgresí. Navíc pohyb HZ může způsobit introgresní klíny nebo za sebou zanechat ostrůvky cizích alel. Bartonova konkordance byla navržena před 24 lety ke zhodnocení introgrese tam, kde je geografická situace složitá. Geografická osa je v nich nahrazena hybridním indexem. Zde porovnáваме tuto metodu, nedávno navrženou metodu genomických klin a dvourozměrnou (2D) geografickou analýzu aplikací na 24 lokusů na X chromozomech 2873 myší ze středoevropské části HZ domácích myší. Ve 2D, 14 lokusů ukazuje lineární kontakt, sedm z nich vysoce konzistentní s předchozími studiemi. Čtyři ukazují několik ostrůvků východně od zóny, což naznačuje recentní pohyb HZ západním směrem, dva ukazují introgresní klín západním směrem. Bartonova konkordance tuto informaci jak potvrzuje, tak zpřesňuje. Existence dříve publikované oblasti chromozomu X s redukovanou introgresí byla potvrzena, přes ve prospěch samců posunutou introgresi proximálního segmentu, která odpovídá západnímu 2D introgresnímu klínu. Výsledky genomických klin jsou co do asymetrie s těmito výsledky v souladu, jsou však obtížněji interpretovatelné. Jsou diskutovány důkazy pro genetický konflikt.

Inference of selection and stochastic effects in the house mouse hybrid zone

Petra Dufková^{1,2,4,5}, Miloš Macholán³ and Jaroslav Piálek^{1,4}

¹ *Institute of Vertebrate Biology, Academy of Science of the Czech Republic, Brno, Czech Republic*

² *Department of Genetics, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic*

³ *Laboratory of Mammalian Evolutionary Genetics, Institute of Animal Physiology and Genetics AS CR, Brno, Czech Republic*

⁴ *Corresponding address: Department of Population Biology, Institute of Vertebrate Biology AS CR, Studenec 122, 67502, Koněšín, Czech Republic*

⁵ *E-mail: dufkop@seznam.cz*

(Received: 21 July 2010, Accepted: 14 December 2010)

Podíl P. Dufkové: 33% (1/3)

In press: *Evolution*, doi: 10.1111/j.1558-5646.2011.01222.x

ABSTRACT

We explored the transition of 13 X-linked markers across two separate portions of the house mouse hybrid zone, asking whether such a comparison can distinguish the effects of selection from random factors. A heuristic search in the likelihood landscape revealed more complex likelihood profiles for data sampled in two-dimensional space relative to data sampled along a linear transect. Randomized resampling of localities analyzed for individual loci showed that deletion of sites away from the zone center can decrease cline width estimates whereas deletion of sites close to the center can significantly increase the width estimates. Deleting localities for all loci resulted in wider clines if the number of samples from the center was limited. The results suggest that, given the great variation in width estimates resulting from inclusion/exclusion of sampling sites, the geographic sampling design is important in hybrid zone studies and that our inferences should take into account measures of uncertainty such as support intervals. The comparison of the two transects indicates cline widths are narrower for loci in the central part of the X chromosome, suggesting selection is stronger in this region

and genetic incompatibilities may have at least partly common architecture in the house mouse hybrid zone.

ABSTRAKT

Pomocí 13 molekulárních znaků vázaných na chromozom X jsme se snažili rozlišit vliv selekce od náhodných vlivů ve dvou geograficky oddělených transektech myší hybridní zóny. Zjistili jsme, že v porovnání s transektem lineárním jsou pravděpodobnostní profily v 2D transektu mnohem komplexnější. Randomizační (jack-knife) analýzou jsme prokázali, že náhodné odstraňování lokalit z okrajových částí transektu může snižovat odhady šířek klin, zatímco odstranění lokalit z centrální části transektu odhad šířky klíny signifikantně zvyšuje. Ukázali jsme, že geografický „sampling design“ je při studiu hybridních zón velmi důležitý a že při odhadu klinálních parametrů by se mělo počítat s jistou mírou neurčitosti uvedením intervalu spolehlivosti. Na obou transektech byly nejmenší šířky klin odhadnuty pro lokusy v centrální oblasti X chromozómu, což dokazuje silnou selekci, která na tuto centrální oblast působí a naznačuje, že genetické nekompatibility v myší hybridní zóně mohou mít přinejmenším částečně shodnou architekturu.